

# 高脂肪食および高糖質食飼育マウスの日和見感染に対する抵抗性並びにビタミンEの感染防御増強効果

吉川<sup>1)</sup>秀成, 福永<sup>1)</sup> 峰子, 渡辺<sup>2)</sup> 隆司, 宅見<sup>3)</sup> 賢二

## Resistance to Opportunistic Infections in Mice Fed a High Fat Diet or a High Carbohydrate Diet and the Protective Effect of Vitamin E

Hideshige Yoshikawa<sup>1)</sup>, Mineko Fukunaga<sup>1)</sup>, Takashi Watanabe<sup>2)</sup>,  
and Kenji Takumi<sup>3)</sup>

### はじめに

癌患者, 重度熱傷患者あるいは免疫抑制剤で処置した動物の免疫機能は低下していると同時に, 緑膿菌やヘルペスウイルスなどによるいわゆる日和見感染に対しても易感染状態になっていることは周知のところである<sup>1~3)</sup>。

ところで, 我々健康人が栄養組成のバランスを無視した食事を長期間摂取した場合, 免疫機能に何らかの影響をおよぼすであろうことは十分推察される。そこで我々は, 高脂肪食あるいは高糖質食で長期間飼育したマウスの免疫機能について実験的日和見感染に対する宿主の抵抗性より検討する一方, これら動物の肝における脂肪酸組成並びにビタミンEの感染抵抗性増強効果をも併せ検討した。

### 材料と方法

- 
- 1) 鈴鹿短期大学, 家政学科。Course in Domestic Science, Suzuka Junior College, Suzuka, Mie
  - 2) 島根医科大学, 微生物・免疫学教室。Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University, Izumo, Shimane
  - 3) 徳島大学, 医学部, 栄養衛生学教室。Department of Food Microbiology, Tokushima University School of Medicine, Tokushima, Tokushima

## 動物および飼育法

ddY系雌マウス（4週令，体重18～20g）を高糖質低蛋白質（HCLP）食，高脂肪低糖質（HFLC）食あるいは標準（ST）食で4週間に亘って飼育した。他方，HFLC食で4週間飼育したマウスをビタミンE（酢酸 $\alpha$ トコフェロール）添加ST食（18mg/100g）でさらに3週間に亘って飼育した場合もある。なお，ST食，HCLP食およびHFLC食の組成は表1に一括した。

Table 1 Compositions of various diets

Content(%)	Diet		
	Standard (ST)	High Carbohydrate & Low Protein(HCLP)	High Fat & Low Carbohydrate(HFLC)
Dextrin	60	73	45
Casein	23	10	23
Yeast	5	5	5
Soybean oil	4	4	18
Liver oil	1	1	2
Fiber	3	3	3
Salts *	4	4	4

\* Herper's salt mixture(Am. J. Nutr., 68: 405, 1958)

## 感染実験並びにカーボン粒子排除試験

臨床分離株である緑膿菌（ $1 \times 10^7$  / ml）あるいは単純疱疹性ウイルスI型（HSV， $5 \times 10^6$  / ml）の0.1mlを4週あるいは7週間に亘って飼育したマウス（10匹/群）の腹腔内に接種し，その生残匹数を観察した。一方，カーボン粒子排除試験はBiozziら<sup>4)</sup>の方法に準じておこなった。即ち，汚過したインデアンインク（8mg/ml）0.2mlを飼育4週あるいは7週後のマウス（5匹/群）の尾静脈内に注入したのち，10分毎に眼底より採取した血液0.025 mlを蒸留水（2ml）で希釈し，その吸光度をOD 710 nmにて測定した。

## 肝における脂肪酸の分析

飼育4週あるいは7週後のマウス（5匹/群）を断頭し，肝の重量を測定したのち，ただちに乳剤化し20倍量のクロロホルム：メタノール（2：1）混液を加えて抽出した<sup>5)</sup>。脂肪含量は重量法にて，脂肪酸組成は硫酸メタノール法でメチル化したのちガスクロマトグラフィーによりそれぞれ分析した<sup>6)</sup>。

## 結 果

### 1) HCLP 食, HFLC 食並びに ST 食飼育マウスの緑膿菌および HSV 感染に対する宿主抵抗性

表 2 に示すように、標準 (ST) 食で飼育したマウスの緑膿菌および HSV 感染に対する生残率はそれぞれ 70% および 80% であったのに対して、HCLP 食飼育マウスにおいてはそれぞれ 50% および 70% とわずかな低下がみられたにすぎなかった。これに対して、HFLC 食飼育マウスのこれら病原体感染に対する生残率は著しく低いものであった ( $P < 0.05$ )。

Table 2 Protective ability of mice fed Standard-, HCLP- or HFLC-diet against *P. aeruginosa* and Herpes simplex virus infections

Diet	Percentage of survivals	
	<i>P. aeruginosa</i>	Herpes simplex virus
Standard	70	80
HCLP	50	70
HFLC	10 *	20 *

\* $P < 0.05$  against values of Standard

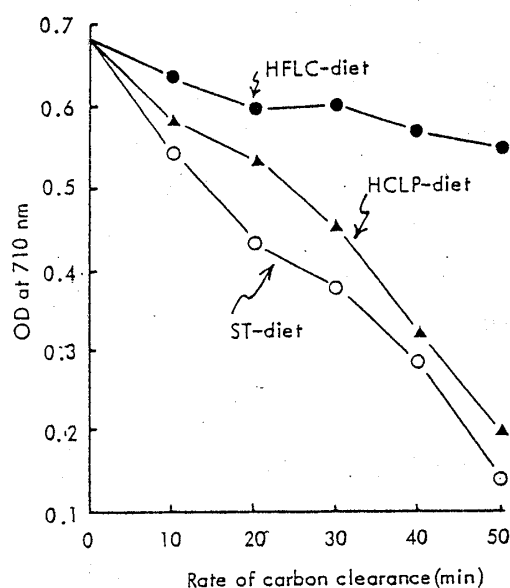


Fig. 1 Carbon clearance ability of liver from fed ST-, HCLP- or HFLC-diet

### 2) HCLP 食, HFLC 食並びに ST 食飼育マウスの肝におけるカーボン粒子排除能

図 1 に示すように、HFLC 食飼育マウスの肝におけるカーボン粒子排除能は ST 食あるいは HCLP 食飼育マウスにおけるよりも著しく低下しており、3 種食飼育マウスにおける感染防御能と肝におけるカーボン粒子排除能との間には高い相関性がみられた。

### 3) HCLP 食, HFLC 食並びに ST 食飼育マウスの肝の重量および脂肪酸組成

HFLC 食飼育マウスの実験的日和見感染に対する宿主抵抗性の低下(表2, 図1)は, 宿主の免疫系の機能低下に起因するものであろうことが示唆された。そこで, 肝の脂質, なかんずく脂肪酸組成の変化について検討を加えた。その結果, HFLC 食飼育マウスの体重( $34.4 \pm 1.3\text{g}$ ), 肝( $6.6 \pm 0.3\text{g}$ ) および脂肪重量( $31.3 \pm 4.0\text{mg/g}$ ) は ST 食飼育マウス(体重: $28.6 \pm 2.0\text{g}$ , 肝: $5.1 \pm 0.3\text{g}$ , 脂肪重量 $25.7 \pm 3.3\text{mg/g}$ ) におけるよりも著しく増大していたが, HCLP 食飼育マウスにおいては ST 食と殆んど差はみられなかった。他方, 表3に示すように, 3種の食事で飼育したマウスの肝における脂肪酸組成の百分率は極めて変動していることが明らかとなった。即ち, ST 食飼育マウスの脂肪酸組成の百分率を正常対照とした場合, HCLP 食飼育マウスにおいては, パルミトオレイン酸およびオレイン酸の著しい上昇( $P < 0.01$ )とステアリン酸の著しい減少( $P < 0.01$ )が, また HFLC 食飼育マウスにおいては, リノール酸の著しい上昇( $P < 0.01$ )とパルミチン酸およびステアリン酸の著しい減少( $P < 0.01$ )がみられたが, いずれにおいても飽和脂肪酸の減少と不飽和脂肪酸の増加傾向がみられた。

Table 3. Composition of fatty acids in fat from liver of mice fed HCLP - or HFLC - diet after four weeks

Fatty acid(%)	Diet		
	Standard	HCLP	HFLC
Palmitic acid	$28.3 \pm 2.2$	$21.3 \pm 1.6$	$15.0 \pm 1.6 *$
Palmitoleic acid	$4.7 \pm 0.8$	$10.7 \pm 1.4 *$	$3.7 \pm 1.1$
Stearic acid	$15.2 \pm 1.4$	$4.1 \pm 0.8 *$	$3.5 \pm 2.1 *$
Oleic acid	$19.8 \pm 2.1$	$29.9 \pm 2.1 *$	$23.8 \pm 1.6$
Linoleic acid	$19.0 \pm 1.9$	$20.2 \pm 2.1$	$39.1 \pm 3.9 *$
Linolenic acid	$2.8 \pm 0.5$	$2.1 \pm 0.6$	$2.0 \pm 0.4$
Arachidonic acid	$10.2 \pm 0.7$	$10.7 \pm 1.5$	$12.9 \pm 1.2$

\*  $P < 0.01$  against values of Standard

### 4) HFLC 食飼育マウスにおけるビタミンEの日和見感染防御増強並びにカーボン粒子排除促進効果

図2に示すように, HFLC 食で4週間に亘って飼育したのち, ビタミンE添加 ST 食で更に3週間飼育したマウスを緑膿菌あるいは HSV で攻撃したところ, 動物の生残率の上昇は全くみられなかったものの, ビタミンEの添加によって生残日数の延長傾向がみられた。一

方、肝におけるカーボン粒子排除能であるが、図3に示すように、減弱した HFLC 食飼育マウスの肝におけるカーボン粒子排除能の回復もみられた。

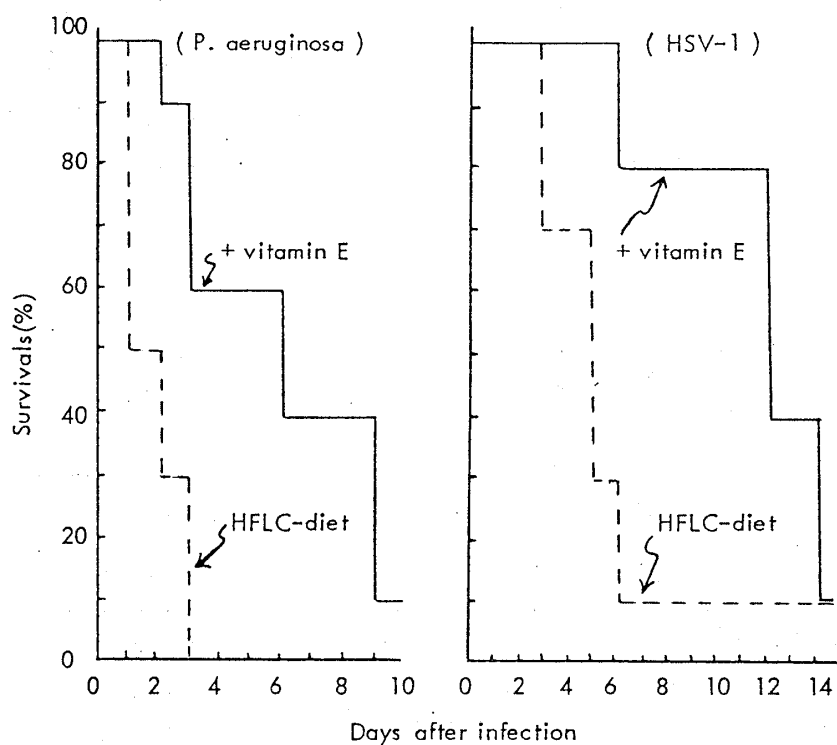


Fig. 2 Enhancement of protective effects of vitamin E on *P. aeruginosa* and HSV-1 infections in mice fed HFLC-diet

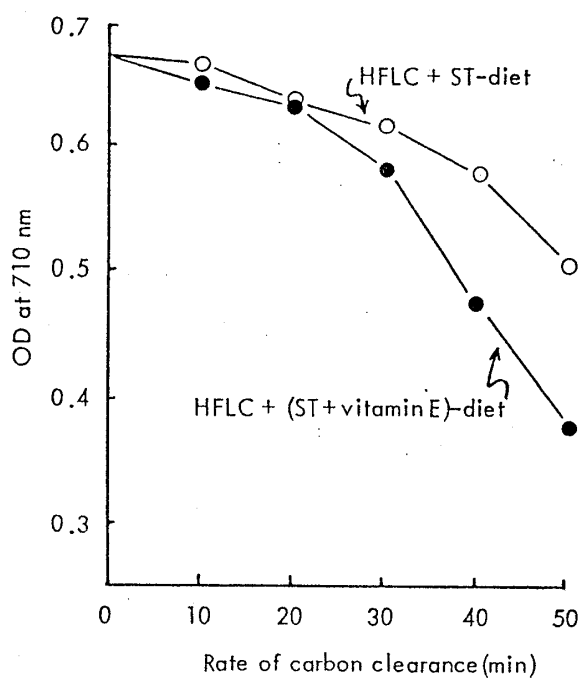


Fig. 3 Carbon clearance ability of liver from mice fed HFLC-diet supplemented with vitamin E

## 5) ビタミンE添加 HFLC 食飼育マウスの肝における脂肪酸組成

表4はHFLC食で4週間飼育したマウスをST食あるいはビタミンE添加ST食で更に3週間飼育したのちの肝における脂肪酸組成の百分率を示したものである。表より明らかなように、HFLC食飼育マウスにおいて著しく増加したリノール酸並びに著しく減少したパルミチン酸とステアリン酸の百分率(表3)は、ビタミンEを長期間補給させることによってこれら脂肪酸の占める割合に、有意の差はみられないもののその改善傾向がみられた。

Table 4 Composition of fatty acids in fat from liver of mice fed (HFLC + Standard + vitamin E) - diet after seven weeks

Fatty acid(%)	HFLC + ST	HFLC + (ST + vitamin E)
Palmitic acid	18.1 ± 2.0	24.1 ± 1.9 <sup>a</sup>
Palmitoleic acid	4.2 ± 0.9	6.2 ± 1.1
Stearic acid	4.9 ± 0.7	9.6 ± 2.1
Oleic acid	24.6 ± 3.0	22.1 ± 2.5
Linoleic acid	35.3 ± 2.8	25.4 ± 2.3
Linolenic acid	2.1 ± 0.3	2.4 ± 0.2
Arachidonic acid	10.8 ± 1.0	10.2 ± 0.7

## 考 察

すでに我々は、ステロイドホルモン剤処置あるいは重度の熱傷をおこさせた動物の日和見菌感染に対する宿主の抵抗性は著しく低下していることについて報告した<sup>7, 8)</sup>。

今回は、栄養組成の全く異なる食事で長期間飼育したマウスの免疫機能について、実験的日和見感染に対する宿主の抵抗性の面から検討した。その結果、

1) 高脂肪低糖質食で飼育したマウスの緑膿菌あるいはヘルペスウイルス感染に対する抵抗性並びに肝におけるカーボン粒子排除能は著しく低下していたが、高糖質低蛋白質食飼育マウスにおいてはさしたる低下はみられなかった。2) 高脂肪低糖質食並びに高糖質低蛋白質食飼育マウスの肝における脂肪酸組成中、標準食飼育マウス肝のそれに比べて、不飽和脂肪酸の増加と飽和脂肪酸の減少傾向がみられた。3) 免疫機能の低下した高脂肪低糖質食飼育マウスの感染に対する抵抗性と肝におけるカーボン粒子排除能はビタミンEの補給によって緩解されると共に不飽和脂肪酸の占める割合の減少と飽和脂肪酸の占める割合の増加傾向

がみられた。

興味深いことに、高糖質低蛋白質食飼育マウスの肝においては、不飽和脂肪酸であるオレイン酸およびパルミトオレイン酸が著しく増加していたにもかかわらず宿主の免疫機能のさしたる減弱傾向はみられなかったのに対して、免疫系に異常のみられた高脂肪低糖質食飼育マウスの肝においてはリノール酸が著しく増加していた。この結果から、同じ不飽和脂肪酸でもリノール酸の免疫機能におよぼす影響はオレイン酸あるいはパルミトオレイン酸におけるよりも大であろうことが示唆されるので、試験管内における免疫担当細胞に対するこれら不飽和脂肪酸の直接的な毒性作用について比較検討を今後進めたい。

ところで、不飽和脂肪酸の体内への蓄積はビタミンE欠乏症を誘起すること、更にビタミンEが欠乏すると不飽和脂肪酸の代謝産物である過酸化物が体内、特に肝内に蓄積しその結果肝の諸機能が著しく低下すること<sup>9)</sup>が報告されている。一方、ビタミンEは宿主網内系の免疫機能を亢進させることも知られている<sup>10)</sup>。高脂肪低糖質食飼育マウスの日和見感染抵抗性並びに肝におけるカーボン粒子排除能の低下は肝への不飽和脂肪酸、なかんずくりノール酸の蓄積とこれに伴う過酸化物の増加によって、肝機能が著しく低下したことに起因するものであり、高脂肪低糖質食飼育マウスにビタミンEを与えることによって宿主の免疫機能の回復がみられたこと、あるいは肝の不飽和脂肪酸の占める割合が減少したことよりビタミンEの貧食および免疫担当細胞におけるユビキノ合成系並びに電子伝達系の機能を亢進せしめたことによるものであろうことが考えられる<sup>11)</sup>が、免疫系におよぼす不飽和脂肪酸、特にリノール酸とビタミンEの拮抗作用についての検討が更に必要であろう。

以上の成績を総括すると、我々が毎日摂取している食事の栄養組成とそのバランスによっては、免疫機能に程度の差こそあれ何らかの影響をおよぼすであろうことが感染実験より立証された。

## 文 献

- 1) Fishman, L. S., and Armstrong, D., *Cancer*, 30: 764, 1972.
- 2) Larson, C. L., Ushimjima, R. N., Karim, R., Barker, M. B., and Barker, R. E., *Infect. Immun.*, 6: 465, 1972.
- 3) Nathan, P., Holder, I. A., and MacMillan, B. G., *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 4: 61, 1973.
- 4) Biozzi, G., Benacerraf, B., Stiffel, C., and Halpern, B. N., *Soc. Biol. (Paris)*, 148: 431, 1954.
- 5) Folck, J., and Lees, M., *J. Biol. Chem.*, 191: 801, 1957.
- 6) Peiseker, K. J., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 41: 87, 1964.
- 7) 斎藤肇, 渡辺隆司, *日細菌誌*, 36: 514, 1981.
- 8) Saito, H., Watanabe, T., Tomioka, H., Sato, K., and Kitagawa, T., *Hiroshima J. Med. Sci.*, 32: 235, 1983.

- 9) 鈴木秀雄, 栄養と食糧, 23: 130, 1970.
- 10) Tengerdy, R. P., Heinzerling, R. H., and Nockels, C. F., *Infect. Immun.*, 5: 987, 1972.
- 11) Heinzerling, R. H., Tengerdy, R. P., Wick, L. L., and Lueker, D. C., *Infect. Immun.*, 6: 1292, 1974.